

Travail fait dans le laboratoire de M. le Professeur Maurice Villaret.

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1932

THÈSE

N° 127

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Adolphe FANG

Né à Cernauti (Roumanie), le 7 septembre 1904

L'HÉMOLYTOGRAPHIE

Président M. M. VILLARET, professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1932

Travail fait dans le laboratoire de M. le Professeur Maurice Villaret.

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1932

THÈSE

N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Adolphe FANG

Né à Cernauti (Roumanie), le 7 septembre 1904

L'HÉMOLYTOGRAPHIE

Président M. M. VILLARET, professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1932

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale . .	GRÉGOIRE.
Physiologie	BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.. . . .	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CLERC.
Pathologie chirurgicale	LENORMANT.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	{ CARNOT.
	{ BEZANÇON.
	{ ACHARD.
	{ Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBOULLET
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique chirurgicale	{ DELBET.
	{ CUNÉO.
	{ LEJARS.
	{ GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements.. . . .	{ COUVELAIRE.
	{ BRINDEAU.
	{ JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD.
Professeurs sans chaire	{ MAUCLAIRE.
	{ MULON.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE Neurologie et Psychiatrie.
 N. Physiologie.
 AUBERTIN . . Pathologie médicale.
 BÉNARD (H.) . Pathologie médicale.
 BROCCQ. . . . Pathologie chirurgicale.
 BRULÉ. . . . Pathologie médicale.
 CADENAT. . . Pathologie chirurgicale.
 CATHALA. . . Pathologie médicale.
 CHABROL . . Pathologie médicale.
 CHEVALLIER. Pathologie médicale.
 DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie chirurgicale;
 DOGNON. . . Physique.
 DONZELOT. . Pathologie médicale.
 ÉCALLE . . . Obstétrique.
 FEY. Urologie.
 GARNIER. . . Pathologie expérimentale.
 GASTINEL . . Bactériologie.
 GATELLIER. . Pathologie chirurgicale.
 GIROUD . . . Histologie.
 HARVIER. . . Pathologie médicale.
 HAZARD . . . Pharmacologie.
 HOVELACQUE Anatomie.
 HUGUENIN . . Anatomie pathologique.
 HUTINEL. . . Pathologie médicale.
 JOANNON . . Hygiène.

MM.

LABBÉ (Henri) Chimie biologique.
 LAROCHE (G.) Pathologie médicale.
 LEMAITRE . . Oto-rhino-laryngologie.
 LEVEUF . . . Pathologie chirurgicale.
 LÉVY-VALENSI. Neuro-psychiatrie.
 LIAN Pathologie médicale.
 MILLOT . . . Histologie
 MONDOR. . . Pathologie chirurgicale.
 MOREAU . . . Pathologie médicale.
 MOULONGUET. Pathologie chirurgicale.
 MOURE. . . . Pathologie chirurgicale.
 OBERLING . . Anatomie pathologique
 OLIVIER . . . Anatomie.
 PIÉDELIÈVRE Médecine légale.
 PORTES . . . Obstétrique.
 QUÉNU. . . . Pathologie chirurgicale.
 RICHT. . . . Physiologie.
 SANNIÉ . . . Chimie biologique.
 SÉZARY. . . . Dermatologie et Syphiligraphie.
 VALLERY-RADOT
 (Pasteur) . . Pathologie médicale.
 VAUDESCAL. Obstétrique.
 VELTER . . . Ophtalmologie.
 VERNE. . . . Histologie.
 VIGNES . . . Obstétrique.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

BUSQUET . . Pharmacologie.
 GUÉNIOT . . Obstétrique.
 LEQUEUX . . Obstétrique.
 LEROUX. . . Anatomie pathologique.

MM.

NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
 RETTERER . . Histologie.
 ZIMMERN . . . Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.

ABRAMI. . . Clinique médicale.
 CHIRAY. . . Clinique médicale.
 DEBRÉ . . . Clinique médicale.
 DUVOIR. . . Clinique médicale.
 FIESSINGER. Clinique médicale.
 LAIGNEL-LEVASTINE. Clinique mé-
 dicale.
 BASSET . . . Clinique chirurgicale.
 CHEVASSU. . Clinique chirurgicale.

MM.

HEITZ-BOYER. Clinique chirurgicale.
 MATHIEU . . . Clinique chirurgicale.
 MOCQUOT. . . Clinique chirurgicale.
 PROUST. . . . Clinique chirurgicale.
 SCHWARTZ . . Clinique chirurgicale.
 LE LORIER . . . Clinique chirurgicale.
 LÉVY-SOLAL . Clinique obstétricale.
 METZGER . . . Clinique obstétricale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, professeur sans chaire	} Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY.	
CHAILLEY-BERT	Stomatologie.
LEDOUX-LEBARD	Éducation physique
WEIL-HALL	Radiologie clinique.
	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES PARENTS

*Hommage de ma grande affection
et de ma profonde reconnaissance
pour les sacrifices que mes études
leur ont imposés et auxquels ils se
sont soumis avec une inépuisable ten-
dresse.*

A MES SŒURS ET A MON FRÈRE

A MON ONCLE BERNHARD

A MES CAMARADES D'ÉTUDES

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

LE PROFESSEUR MAURICE VILLARET

Professeur d'Hydrologie et Climatologie Thérapeutiques
Médecin de l'Hôpital Necker
Officier de la Légion d'honneur

Qui nous a reçu dans son laboratoire et inspiré le sujet de ce travail.

Hommage de notre profond respect et de notre vive reconnaissance.

A M. LE DOCTEUR L.-JUSTIN BESANÇON

Chef de Clinique et de Laboratoire à la Faculté

*Qui nous a guidé de ses précieux
conseils.*

A M. LE DOCTEUR ROGER EVEN

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX

M. LE PROFESSEUR ACHARD

M. LE PROFESSEUR LEMIERRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ AUVRAY

M. LE DOCTEUR BABONNEIX

M. LE DOCTEUR LESNÉ

L'HÉMOLYTOGRAPHIE

INTRODUCTION

Au cours de ces dernières années, nos connaissances physico-chimiques sur le sérum sanguin se sont considérablement augmentées, mais nous connaissons peu le retentissement des modifications humorales sur la physiologie du globule rouge.

Les dosages sur les hématies, comme on les pratique aujourd'hui sur le sérum, se heurtent à de grosses difficultés. On s'est donc logiquement porté sur l'étude de l'hémolyse, qui peut donner des renseignements intéressants concernant la biochimie globulaire.

Aussi la mesure de la résistance globulaire est actuellement entrée dans la pratique courante. Cependant malgré les longs tâtonnements, les méthodes actuellement employées, ne permettent d'apprécier que les hémolyses considérablement modifiées, comme elles le sont, par exemple, dans les ictères hémolytiques et les ictères par rétention.

Cette technique consiste dans le traitement du sang à examiner par des solutions de CINa de

titre de plus en plus faibles. On verse ces solutions dans une série de petits tubes en complétant le volume total par un nombre progressivement croissant de gouttes d'eau distillée. Le volume total du liquide dépend du titre de la solution de NaCl ; c'est ainsi qu'avec la solution de 7 p. 1000 qui est la plus habituellement employée, le nombre total de gouttes devra être de 70 ; le numérotage du tube donne le titre de la solution qu'il contient ; par exemple, le tube qui contient 48 gouttes de la solution de NaCl à 7 p. 1000 et qu'on complète avec 22 gouttes d'eau distillée, tube qu'on appelle tube 48, correspond à une solution de NaCl à 0,48 p. 100. Si une fragilité globulaire très marquée obligeait à se servir d'une solution de ClNa à 8 p. 1000 chaque tube devrait être complété non plus à 70, mais à 80 gouttes. Les gouttes d'eau distillée et celles de la solution chlorurée seront prises avec deux pipettes jumelles.

Dans chacun des tubes ainsi préparés, on verse une goutte de globules ; l'hémolyse se produit ou non, et après cinq minutes de centrifugation, on note les résultats. L'hémolyse totale est notée par la disparition macroscopique du dépôt globulaire au fond des tubes à hémolyse. Or pour un même degré d'hémolyse, la persistance ou la disparition de ce dépôt dépend du nombre absolu des hématies introduites ; ce qu'on appelle hémolyse totale n'est pas, en effet, le point où l'hémolyse est véritablement complète, mais le point où le nombre des

hématies non détruites devient trop faible pour former au fond du tube un dépôt macroscopiquement appréciable. Or ce nombre étant une fraction constante du nombre total des hématies employées sa valeur sera d'autant plus forte, pour un même tube, que le nombre total des hématies employées, sera lui-même plus grand. Dans un même tube, l'hémolyse pourra donc apparaître comme totale si l'on s'est servi d'une petite goutte de sang et comme incomplète si la goutte de sang utilisée a un plus grand volume. Pour que la notation de l'hémolyse totale donne des résultats constamment comparables entre eux, il faut donc se servir d'une goutte de sang dont le volume soit constamment le même. Dans ce but on se sert comme pipette à sang du compte-gouttes de Duclaux qui donne pour l'eau distillée à 15°, 100 gouttes par 5 centimètres cubes. Pour verser l'eau distillée et la solution de NaCl on se sert d'une pipette de centimètres cubes divisée en $1/50$ de centimètre cube.

En dehors de la lenteur de ce procédé, on se heurte à une imprécision des résultats qui tient à l'interprétation qui ne peut être qu'approximative. Il est impossible de préciser exactement le point initial et final de l'hémolyse. Cet examen ne donne des résultats appréciables que dans les cas des affections très hémolytiques. Une fragilisation, fort capable de déterminer dans l'organisme des troubles importants, passe systématiquement inaperçue.

Cette méthode communément employée, conduit

ainsi à considérer comme normaux des sangs nettement pathologiques.

Aussi nous avons saisi avec plaisir la proposition de M. le Professeur Maurice Villaret pour l'étude d'une nouvelle technique de la mesure de la résistance globulaire, par une méthode reposant sur un principe tout différent et donnant néanmoins des résultats beaucoup plus rapides et beaucoup plus précis.

Notre travail devait comporter deux parties : une première partie physiologique, et une deuxième partie pathologique. Mais des circonstances imprévues nous ont obligé d'abandonner la seconde partie que nous espérons reprendre dans un avenir prochain.

HISTORIQUE

Ce sont les physiologistes qui abordèrent les premiers la question de l'hémolyse. Après les recherches de Hamburger, en même temps que Pfeffer et Vries, sur la plasmolyse, la théorie de Van't Hoff exerçait une application féconde sur ce sujet. Van't Hoff montra que les solutions diluées obéissent aux mêmes lois que les gaz au sujet des échanges osmotiques.

Les premières recherches cliniques remontent à Malassez qui effectua en 1873 des examens de la résistance globulaire dans des études comparatives du sang dans des solutions salines à diverses concentrations.

Ces travaux furent poursuivis par Mosso et Viola en Italie, Hamburger en Allemagne et par Vaquez et Ribierre en France.

Chauffard, F. Widal et leurs élèves en décrivant l'ictère hémolytique ont montré tout l'intérêt pratique de l'étude de la résistance globulaire.

La thèse de E. May présente un travail remarquable par l'étude de ses courbes et par ses recherches sur l'hémolyse par la saponine. Car la fragilité globulaire n'est pas une : il existe diverses fragilités globulaires. Les hématies peuvent être fra-

giles dans un milieu déterminé et normales dans un milieu différent du premier. D'autre part, les sensibilités (car il faut parler *des* sensibilités du globule) ne sont pas les mêmes pour chaque *espèce* animale et Rywosch a publié un tableau où les diverses espèces animales sont classées par ordre de fragilité croissante vis-à-vis de toute une série d'agents hémolytiques. Ce tableau montre que la sensibilité est très loin d'être analogue dans tous les cas.

L'étude des diverses résistances globulaires prend un intérêt considérable. Le globule rouge apparaît en effet comme le meilleur témoin que nous possédons sur la pathologie cellulaire.

Les diverses substances hémolytiques qui s'attaquent aux globules rouges sont de véritables réactifs de son état.

On considérerait le globule rouge comme éclatant lorsque la résistance de la paroi cellulaire ne suffisait plus à compenser la différence entre la pression osmotique intérieure et celle du milieu.

Actuellement la théorie de la perméabilité de la membrane cellulaire vis-à-vis de l'hémoglobine sous l'action des solutions salines, remplace cette ancienne conception.

Il se fait un simple échange à travers la paroi entre l'hémoglobine et l'eau qui baigne l'érythrocyte. Ce passage osmotique est accompagné d'un gonflement de la cellule qui au fur à mesure qu'elle s'appauvrit en hémoglobine, devient progressivement de plus en plus transparente.

La mesure de l'hémoglobine libérée peut être étudiée par divers procédés et l'on sait les beaux travaux de Fabre sur cette question.

On peut aussi suivre par diaphanoscopie continue la marche de l'hémolyse.

En se basant sur ce principe, M. H. Jacobs a proposé la recherche de l'hémolyse par une méthode diaphanoscopique. Les globules rouges devenant en solution d'eau distillée de plus en plus transparents, il plaça derrière une colonne d'une telle solution un filament électrique lumineux qui est aperçu lorsque l'hémolyse atteint un certain degré.

Les dosages effectués (par la néphélométrie) par ces méthodes (jusqu'en 1918) ont porté principalement sur :

- 1° Chlorure d'argent (par Stas, Richards et Wells);
- 2° Acide phosphorique (Pouget et Chouchak, 1905);
- 3° Substances protéiques (Kober, 1912-1917);
- 4° Acétone (Marriott, 1913, Folin et Denis, 1914);
- 5° Les graisses (Bloor, 1914).

Des méthodes semblables ont été présentées dans l'étude de suspension par Vlès (1921), Holker et d'autres.

Rappelons qu'il existe plusieurs méthodes qui ont mis en œuvre des procédés photométriques pour l'évaluation quantitative de suspensions. Nous citons aussi bien les procédés néphélométriques, dans lesquels on mesure le faisceau diffracté latéralement, que les procédés opacimétriques où l'examen se fait sur la direction de transmission.

Cette méthode fut perfectionnée par Maurice Villaret et MM. L. Justin Besançon et R. Even qui ont construit un appareil répondant à toutes les exigences de cet examen et qui par sa précision, en même temps que par sa simplicité de maniement satisfait à tous les besoins de recherche de l'hémo-lyse globulaire.

LE PRINCIPE

La méthode que nous précisons est basée sur le principe qu'une émulsion de globules rouges n'est transparente que si les érythrocytes sont complètement hémolysés.

F. Vlès a publié un mémoire avec le but de préciser si, et dans quelles conditions un *dosage* de bactéries d'une émulsion bactérienne par une méthode optique (opacimétrie) est possible.

Des émulsions pareilles posent le problème des lois de transmission de milieu troubles dont les éléments ne sont pas plus petits que la longueur d'onde.

La variable fondamentale qui intervient dans ce phénomène est la *quantité de substance* répartie dans l'émulsion.

Une mesure pratique d'opacimétrie n'est simple et rationnelle que si elle est faite en lumière *monochromatique*. La lumière blanche avec laquelle on peut traiter des matières colorantes s'applique mal à l'examen des émulsions.

Une émulsion d'hématies constitue un milieu trouble qui subit une perte de la lumière, qui doit le traverser.

L'appareil.

L'appareil dont nous nous servons est composé essentiellement de :

a) *Un cylindre enregistreur* qui tourne à une vitesse constante, réglée par un système à poids, vitesse qui est égale à 2 mm. par seconde. Le papier sur lequel le graphique s'enregistre, est un papier quadrillé avec des traits distants de 2 mm. les uns des autres. Il existe des traits de moyenne épaisseur pour toutes les quinze secondes et des traits forts toutes les minutes. Ainsi la lecture est beaucoup facilitée.

b) *Un système de tubes* : un tube plongeur et un tube récepteur. Dans le tube récepteur se place le sang et le liquide hémolytique qui est de l'eau distillée.

Le tube plongeur est en verre, plein, transparent, mais verni de noir, sur les surfaces extérieures, pour éviter la déperdition de lumière. Ce tube plongeur est animé des mouvements verticaux réglés par l'observateur par l'intermédiaire d'une vis. Ces mouvements se transmettent horizontalement par un stylet au cylindre enregistreur.

c) *Un système lumineux* : composé par une lampe à filament, source de l'image. La lumière se réflé-

chit par un prisme sur le fond du tube récepteur et de là par l'intermédiaire du tube plongeur, à l'œil de l'observateur.

Précisons l'importance d'opérer toujours dans les mêmes conditions : température et intensité de courant.

Pour la première, Jacobs plaçait son système récepteur dans un bain à température fixe. Nous nous servons d'un manchon de feutre épais entourant le tube récepteur.

Pour le réglage du courant, un rhéostat et galvanomètre nous donnent les indications nécessaires, pour que l'intensité lumineuse soit constante.

Pour obtenir une lumière monochromatique, nous intercalons entre le prisme et le tube récepteur un filtre Wratten n° 90.

Technique.

Avant de commencer, l'appareil doit être mis au point. On remonte le système de poids, on met le stylet au point de départ, de préférence sur un trait fort, qui indique le début d'une minute.

On lave à l'eau ordinaire et on sèche le tube récepteur. On essuie bien la surface libre du tube plongeur. Ceci fait, on peut employer :

soit le sang total,
soit le sang déplasmatisé.

Pour le sang déplasmatisé, on a objecté qu'en

séparant les globules de leur milieu, on les plaçait dans des conditions anormales et qu'on ne pouvait plus conclure de l'hémolyse *in vitro* de l'hémolyse *in vivo*. Mais aucune méthode n'est à l'abri d'une critique de ce genre et même l'emploi du sang total ne nous permet pas de nous placer dans les conditions analogues à celles qui sont réalisées dans l'organisme. Toutes nos expériences de laboratoire se font nécessairement dans ces conditions artificielles et tout ce que nous sommes scientifiquement en droit de leur demander, c'est de mettre en évidence une altération du globule à laquelle nous puissions rapporter des troubles cliniquement constatés.

Le sang doit être reçu au sortir de la veine sur du citrate ou sur du fluorure de sodium en poudre. Prendre la précaution de bien agiter le tube pour éviter la coagulation. 5 centimètres cubes suffisent largement même pour plusieurs répétitions de l'examen.

La numération globulaire est indispensable pour le sang total. Car il est évident que la durée de l'hémolyse est, en partie, facteur du nombre des globules rouges.

Une méthode simple introduite en 1891 par Hedin est celle de l'hématocrite. Par cette méthode, on mesure dans un tube gradué le volume total de toutes les cellules mises ensemble, très serrées par la force de la centrifugeuse. Son avantage est la simplicité. Mais le grand désavantage est, qu'il

faut beaucoup de temps pour mettre les cellules en masse exempte de fluide, même avec une centrifugeuse la plus puissante. Aussi son emploi est rare. Il existe encore d'autres méthodes dont l'une, colorimétrique, employée par E. May. Mais celle-ci est assez longue et exige de multiples déterminations au colorimètre. Il propose alors de préparer une échelle colorimétrique à laquelle on puisse macroscopiquement comparer les divers tubes où s'est fait l'hémolyse. Nous nous servons pour les énumérations de la cellule de Malassez, qui, après un calcul simple, nous donne le nombre de globules rouges. Les cellules tombant rapidement sur le fond de la cellule d'examen on examine pratiquement la répartition des éléments sanguins sur une surface bien délimitée.

La quantité de sang employé doit être toujours la même. Elle doit être dans un rapport constant avec le volume de la solution hémolysante. Nous employons 0,1 cmc. de sang total ou déplasmatisé que nous plaçons dans le tube récepteur.

Après avoir mis celui-ci en place, nous ajoutons 10 cmc. d'eau distillée et abaissons immédiatement le tube plongeur. Le cylindre enregistreur se met automatiquement en marche, et nous observons à travers un oculaire qui est placé au-dessus du tube plongeur. Si le filament de la lampe apparaît on élève le tube plongeur de façon à augmenter la hauteur de la colonne liquide. Au fur et à mesure que l'hémolyse progresse, la colonne devient trans-

parente sur une plus grande hauteur. Quand le filament est visible sur toute la hauteur de la colonne liquide, l'hémolyse est expérimentalement complète et se trouve automatiquement enregistrée.

L'avantage de cette technique est évident. Nous n'avons plus besoin de démontrer la *rapidité* d'exécution, celle-ci est évidente, l'examen demande quelques minutes tout au plus.

La *précision* est infiniment supérieure à celle obtenue avec la méthode ancienne dès qu'on s'est familiarisé avec le maniement de l'appareil, ce qui demande seulement une vingtaine de déterminations préalables.

Pour la concordance de nos résultats obtenus avec l'ancienne méthode, nous avons toujours exécuté simultanément l'examen avec le vieux procédé des tubes sans avoir observé, tout au moins jusqu'ici, de résultats contradictoires.

Interprétation des courbes.

L'interprétation de la courbe est très simple. Le tracé commence automatiquement dès que le tube plongeur est baissé. Chaque point de la courbe correspond à un passage d'hémolyse. Et c'est la vitesse du gonflement cellulaire qui se transmet sur le tracé. C'est ce degré de gonflement qui exprime l'hémolyse. Au moment de l'hémolyse totale, du moins expérimentalement, c'est-à-dire quand le filament est visible sur toute la hauteur de la colonne

liquide, le cylindre est arrêté. En comptant le nombre des traits, nous avons le nombre des secondes de la durée de l'hémolyse.

Modifications.

Dans certains cas on se trouve en présence de globules particulièrement fragiles ou au contraire extrêmement résistants. Bien que nous n'envisageons pas les cas pathologiques, nous devons préciser que, l'hémolyse étant trop rapide, on doit employer :

Pour les globules très fragiles : 0,2-0,4 cmc. de sang.

Pour les globules très résistants, l'hémolyse avec 0,1 cmc. de sang total sera parfois trop longue, on devra alors diluer à moitié avec du sérum physiologique.

Ces précautions sont indispensables, car une hémolyse trop rapide expose davantage aux erreurs. D'autre part, une hémolyse faite avec du sang trop concentré, sera difficile sinon impossible. Car la quantité trop grande d'hémoglobine exvasé des globules, donnerait à la solution une teinte si intense, qu'elle gênerait l'observation du filament électrique.

Résultats.

Nous n'envisageons dans ce travail que les chiffres normaux du temps d'hémolyse du sang traité à l'eau distillée. Le temps d'hémolyse est en rapport direct avec le nombre des globules rouges.

Nous donnerons une table qui indique le chiffre correspondant à chaque nombre des globules. La numération globulaire est indispensable, mais n'est-elle pas faite systématiquement chez tous les sujets dont on doit connaître la résistance globulaire.

1° Pour la quantité de 0,1 cmc. de sang qui est la quantité optima par l'examen d'un sang normal nous obtenons :

0,1 cmc. sang	5.000.000.....	90 secondes
	4.000.000.....	70 —
	3.000.000.....	55 —
	2 000.000	35 —

2° Pour le sang d'une résistance très augmentée nous l'employons dilué à moitié avec du sérum physiologique, soit :

0,1 cmc. de sang dilué	5.000.000...	45 secondes
	4.000.000...	35 —
	3.000.000...	25 —

3° Pour le sang au-dessous de 3 millions de globules rouges il sera nécessaire d'employer la quantité de 0,2 cmc., voici la table :

Avec la quantité de 0,2 cme. de sang, nous obtenons pour :

5.000.000	—	180 secondes
4	—	140 —
3	—	110 —
2	—	70 —
1	—	35 —

Ce qui frappe dans ces tableaux est, que les chiffres augmentent en raison d'une progression arithmétique. A chaque million de globules correspond un temps de 35 secondes.

Les différentes proportions nous les avons préparées en mélangeant le sang avec la quantité correspondante de sérum physiologique.

Des petites variations, c'est-à-dire celles de 5 secondes au dessus ou au-dessous des chiffres indiqués sont physiologiques. Les cas pathologiques donnent des *variations très nettes*, grâce au fonctionnement précis de notre appareil.

Il faut aussi tenir compte des erreurs possibles dans la numération globulaire, car nous savons jusqu'à quel pourcentage une erreur pareille peut aller.

Influence de la température.

Nos chiffres sont fixés à la température du laboratoire. Notre expérimentation nous a montré que des petits écarts de la température n'influent pas

considérablement les résultats. Des températures qui en pratique ne sont jamais atteintes, peuvent donner des modifications considérables. Aussi avec 0,1 centimètre cube de sang normal traité avec de l'eau distillée à 60° au lieu de 20°, température du laboratoire, nous obtenons un temps de moins de 60 secondes au lieu de 90 secondes qui est le normal. Mais en descendant vers la température de 37°, température physiologique, le chiffre est presque normal.

Le froid également ne semble trop influencer la marche de cette réaction, les grands écarts en travaillant avec l'eau étant impossibles en raison de la congélation.

Toutefois il est prudent de laisser refroidir le sang sorti de la veine et de ne pas procéder immédiatement à l'examen.

D'autre part, il est à déconseiller de laisser le sang jusqu'au lendemain, car étant déjà dans des conditions artificielles hors de son milieu, il risque de s'altérer.

Comme anti-coagulant nous avons choisi le fluo-rure de sodium. Des examens avec grosse augmentation de cet anticoagulant n'ont pas modifié le temps d'hémolyse. La quantité insuffisante au contraire peut donner lieu à une coagulation partielle qui rend le sang inutilisable.

Il faut encore quelques petites précautions pour que l'examen soit parfait.

Le sang sorti de la veine sur l'anticoagulant, doit être bien agité de façon que celui-ci soit bien réparti dans tout le sang et ne donne pas de zone coagulée.

En mettant le sang dans le tube récepteur, veiller que la goutte soit étalée sur le fond et éviter une déperdition sur les parois.

Il est à conseiller de laisser l'eau distillée tomber spontanément sans souffler dans la pipette.

En laissant tomber l'eau horizontalement, c'est-à-dire directement sur le fond du tube, on évitera la création de zones plus foncées.

CONCLUSIONS

1^o Les méthodes classiques de Vaquez et Ribierre ; de Widal, Abrami et Brûlé ; pour la mesure de la résistance globulaire sont précieuses et rendent d'incontestables services, mais, elles sont d'exécution assez lente, et d'interprétation délicate.

2^o La méthode que nous proposons, toute artificielle qu'elle soit, obvie à ces deux inconvénients :

Elle est rapide, exécutée en quelques minutes.

Elle est précise, et permet de déceler les modifications les plus discrètes de la résistance globulaire.

3^o Elle est basée sur le principe suivant, rigoureusement appliquée dans l'appareil imaginé par Maurice Villaret, L. Justin-Besançon et Roger Even.

Une émulsion des globules rouges n'est transparente que lorsque ceux-ci sont complètement hémolysés.

4^o Les résultats obtenus sont fonction, non seulement de la résistance globulaire, mais encore du nombre des hématies ; c'est pourquoi une numération globulaire doit précéder la mesure du temps

d'hémolyse. Cette numération ne complique pas la méthode, étant donné qu'elle est pratiquée systématiquement chez le sujet dont on a intérêt à connaître la résistance globulaire.

5° A l'état normal chez un sujet ayant 5.000.000 de globules rouges par millimètre cube, le temps d'hémolyse est de 90 secondes pour une dilution au 1/100 de globules rouges dans l'eau distillée.

Dans certaines conditions, la résistance globulaire étant trop diminuée ou trop augmentée, il est préférable, pour obtenir le maximum de précisions, d'employer : si la résistance globulaire est trop diminuée, une dilution au 1/50 ; si elle est trop augmentée, une dilution au 1/200.

Dans le premier cas, le temps d'hémolyse est de 180 secondes, et dans le second cas de 45 secondes, toujours bien entendu pour le sang contenant 5.000.000 de globules rouges par millimètre cube.

6° Un simple coup d'œil sur les tableaux ci-dessus, montre la résistance globulaire normale pour un sang contenant un nombre déterminé d'hématies, et permet d'apprécier immédiatement les modifications pathologiques.

Vu : Le Président de la thèse,
M. VILLARET.

Vu : le Doyen,
BALTHAZARD.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
Pour le Recteur, l'Inspecteur d'Académie.
J. PERRON.

BIBLIOGRAPHIE

- Brulé.* — Les ictères hémolytiques acquis. Thèse de Paris, 1909.
- Chauffard.* — Pathogénie de l'ictère congénital de l'adulte.
- Hamburger.* — La résistance des globules rouges (rapport au Congrès de Paris, 1900, section d'anatomie pathologique).
- Hédin.* — Über die Permeabilität der Blutkörperchen (Arch. f. die ges. Phys., 1897).
- May (E.)* — Etude sur les résistances globulaires. Thèse Paris, 1914.
- Mosso.* — Résistance des globules rouges (Arch. ital. de Biol., 1887, p. 257)
- Ribierre.* — L'hémolyse et la mesure de la résistance globulaire. Thèse Paris, 1903.
- Rywowosch.* — Vergleichende Untersuchungen ueber die Resistenz der Erythrocyten einiger Saugetiere gegen hemolytische Agentien (Arch. f. d. gesamte Phys., 1907).
- Vaquez.* — Méthode propre à évaluer la résistance des globules du sang (Soc. Biol., 1898).
- Widal, Abrami et Brulé.* — Différenciation de divers types d'ictère hémolytiques par le procédé des hématies déplasmatisées. (Presse méd., oct. 1907).
- Jacob (M.-H.)* — Osmotic Properties of the erythrocyte.
- Flés (F.)* — Arch. de phys. biol., 1, 189, 1921

